

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局



(43) 国際公開日  
2000 年 12 月 21 日 (21.12.2000)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 00/77189 A2

(51) 国際特許分類<sup>7</sup>: C12N 15/00, A61K 67/027

(21) 国際出願番号: PCT/JP00/03917

(22) 国際出願日: 2000 年 6 月 15 日 (15.06.2000)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:  
特願平11/217635 1999 年 6 月 16 日 (16.06.1999) JP

(71) 出願人 および

(72) 発明者: 新井 泉 (ARAI, Izumi) [JP/JP]; 〒120-0044  
東京都足立区千住緑町2丁目19番16号 Tokyo (JP).

(81) 指定国 (国内): AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR,  
BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, DZ, EE, ES, FI, GB,

GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KR,  
KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK,  
MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI,  
SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU,  
ZA, ZW.

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW,  
MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM,  
AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許  
(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,  
LU, MC, NL, PT, SE), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI,  
CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 第 17 条(2)(a)に基づく宣言; 要約なし; 国際調査  
機関により点検されていない発明の名称。

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される  
各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語  
のガイダンスノート」を参照。



Best Available Copy

WO 00/77189 A2

(54) Title: METHOD FOR THE NEOGENESIS OF CELL AGE

(54) 発明の名称: 細胞年齢新生法

(57) Abstract:

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## 明 細 書

## 細胞年齢新生法

## 技術分野

この発明は、生物学および生命科学の分野に属する。

5

## 背景技術

従来、生物は老化が進んで死に至ると考えられていた。

## 発明の開示

- 10 本発明は、生物の老化を防止し、個体、器官、組織、細胞の長期間にわたる良好な機能を保持する。この目的を達成する為、本発明は、老化の進行した生物から新しい細胞を作り出し、その新しい細胞によって、個体、器官、組織、細胞を新生させて古いものと交換するという過程を繰り返すものである。

15

## 図面の簡単な説明

- 第1図は、細胞年齢の新しいクローン体、器官、組織、細胞などを再生させる為に用いる個体やクローン体の生殖細胞の図である。1 男性。2 女性。3 体細胞分裂を行う増殖期。4 成長期。
- 20 5 減数分裂第一分裂。6 減数分裂第二分裂。7 始原生殖細胞。8 精原細胞。9 一次精母細胞。10 二次精母細胞。11 精細胞。12 変形。13 精子。14 始原生殖細胞。15 卵原細胞。16 一次卵母細胞。17 第一極体。18 二次卵母細胞。

1 9 第二極体。2 0 卵。

第2図は、個体やクローン体から、 $2n$ の生殖細胞を含める  
体細胞利用、二倍体利用、細胞融合などによって生ずる

クローン体と、それらのクローン集団を用いて受精や単為生殖  
5 などにより新生クローン体集団を作成し、レベルの異なる複数の  
クローン体集団を世代を越えて系統的に活用してゆく図である。

2 1 体細胞。2 2 二倍体。2 3 細胞融合。2 4 クローン体。

2 5 単為生殖。2 6 受精。2 7 新生クローン体。

2 8 新生クローン体集団。

10

発明を実施するための最良の形態

生物の個体やクローン体の生殖細胞を用いて、細胞年齢の  
新しいクローン体や器官、組織、細胞などを再生させる本発明を  
より詳述するために、添付の図面に従ってこれを説明する。

15 まず、第1図では、生物の個体やクローン体において $2n$ の  
核相を持つ男性1の始原生殖細胞7、精原細胞8、  
一次精母細胞9、女性2の始原生殖細胞14、卵原細胞15、  
一次卵母細胞16の核を、極体と染色体を除いた未受精卵に細胞  
融合で移動させ、細胞年齢の新しいクローン体や器官、組織、  
20 細胞を再生させ、古いものと交換する。

上記の男性1の細胞を採取しにくい場合、 $nX$ の  
二次精母細胞10、精細胞11、精子13と $nY$ の  
二次精母細胞10、精細胞11、精子13を界面活性剤や  
センダイウイルスなどで細胞融合23させ、または  
25 一次精母細胞9から二次精母細胞10へ移る段階でコルヒチンや

アセナフテンや温度処理などにより  $2nXY$  の細胞核を作る。

上記の女性 2 の細胞を採取しにくい場合、二次卵母細胞 18、卵 20、極体 17、19 同士を界面活性剤やセンダイウイルスなどで細胞融合 23 させ、または一次卵母細胞 16 から

- 5 第一極体 17 が分裂する前や二次卵母細胞 18 から第二極体 19 が、あるいは第一極体 17 から 2 個の極体が生ずる前にコルヒチンやアセナフテンや温度処理などにより二倍体 22 の細胞核を作る。

第 2 図で男性の個体やクローン体 24 から

- 10 女性のクローン体 24 を作る場合には、 $nX$  の二次精母細胞 10、精細胞 11、精子 13 同士を界面活性剤やセンダイウイルスなどで細胞融合 23 させ、または  $nX$  の二次精母細胞 10 から精細胞 11 へ移る段階でコルヒチンやアセナフテンや温度処理などにより二倍体 22 の細胞核を作る。
- 15 このようにして作ったクローン体からも、その体細胞を用いたり、生殖細胞を用いて、上記のようなクローン体、器官、組織、細胞などの再生を繰り返し行ったりすることができる。更に、 $2nXY$  のクローン体と  $2nXX$  のクローン体を受精させることにより、完全にテロメアの回復した新生細胞を得る。このような
- 20 新生クローン体の集団 28 において  $2n$  の生殖細胞を含める体細胞利用 21、二倍体利用 22、細胞融合 23 に加えて、受精 26 を併用することにより、無限に新生細胞を得ることができる。

- また、 $2nXX$  のクローン体 24 の集団においても  $2n$  の生殖
- 25 細胞を含める体細胞利用 21、二倍体利用 22、細胞融合 23

などを行うことができる。これらの方法により  $2nXY$  と  $2nXX$  の集団や  $2nXX$  の集団において  $2nXY$  や  $2nXX$  の卵を作ることにもできる。そして、アリ、ミツバチなどの単相単為生殖やアリマキ、ミジンコなどの複相単為生殖のように卵という場を用いて発生させるのである。つまり、卵にはもともと発生能力があるので、カイコ、ウニ、カエル、ウサギなどのように卵をブラシでこすったり、酪酸と高張海水処理をしたり、血液を付けた針や細い針でつついたりすることなどで人為単為生殖を行う。こうして  $2nXY$  と  $2nXX$ 、または  $2nXX$  の新生クローン体集団 28 ができる。この集団において  $2n$  の生殖細胞を含める体細胞利用 21、二倍体利用 22、細胞融合 23 に加えて単為生殖 25 を併用することにより無限に新生細胞を得ることができる。作成した複数のクローン体を、世代を越えて系統的な集団として活用することは、無性生殖と有性生殖を併用することと同様、若返った新しい個体、器官、組織、細胞などを保持する為に、生物にとって莫大な恩恵をもたらすのである。また、交配して繁殖可能な近縁種を新生クローン集団の一方に参加させ、保存された DNA や RNA、生殖細胞などと交配して生じた雌の生殖細胞などに、保存された DNA や RNA、生殖細胞などを交配するプロセスを繰り返していくと、昔の生物を復活させることもできる。昔の生物の中で単位発生が可能なものであれば、人為的に物理的あるいは化学的な処置によって単為生殖で復活させることもできる。

細胞の若返りは核相交代と接合にポイントがある。アオミドロのような単相  $n$  世代が発達した生物は、分裂による無性生殖の

環境が悪くなると複相  $2n$  の接合子を作って休眠し、春に減数分裂をして  $n$  となって発芽する。しかし、進化の方向は  $n$  世代の退化と  $2n$  世代の発達にあり、多くの生物は  $2n$  が減数分裂で  $n$  になってから接合することにより、年齢とともに短くなるといわれるテロメアを完全に再生するし、単為発生の場合  $n$  や  $2n$  のまま卵という場によって完全なテロメアを得る。生殖細胞はテロメラーゼがテロメアの長さを保つ。造血細胞のように盛んに分裂する細胞も弱いテロメラーゼ活性を持ち個体の中に保持されているが、通常の体細胞にテロメラーゼ活性はない。

そこで細胞、組織、器官などの寿命を保つ為には、強制的にテロメラーゼを発現させるか、テロメアの長さやテロメラーゼ活性を保ち続ける細胞と老化した細胞を置き換えてやらなければならない。しかし、*in vivo* にある方が *in vitro* の環境よりもテロメアの短縮が抑えられたり、最大寿命 3 年余のマウスのテロメアがヒトのテロメアより長かったりすることから考えると、テロメアの短縮が個体の余命を完全に左右するとは必ずしも言えない。

分化した細胞からも個体発生が可能なので、体細胞はいわば無性生殖の為の生殖細胞と言える。そして、核相交代と接合を行うのが有性生殖の為の生殖細胞である。有性生殖の為に分化した、あるいは特別に保存されたと言えるこれらの細胞は  $2n$  から減数分裂で  $n$  となり、受精時に  $n$  の核同士が融合して  $2n$  の未分化細胞となって、その所在を隠す。つまり、いずれ未分化となる目的で有性生殖用にやや分化していた細胞が、卵という場において未分化の状態へ引き戻される。

いったん未分化細胞の中へ隠れた生殖細胞は、囊胚期に中胚葉としてすぐ現れる。そして、発生開始 5 週目には始原生殖細胞 7、14 が出現し、殆ど老化が進まない。これらの  $2n$  生殖細胞は体細胞分裂を繰り返しながらもテロメラーゼ活性を持ち続け、個体やクローン体内に保存されている。従って、 $2n$  生殖細胞を用いることによって細胞年齢の新しいクローン体や器官、組織、細胞などを、極性や濃度勾配などに従って誘導を重ね、再生させることができる。

- 体細胞クローンや単為生殖などを含めて考えると、分化と
- 10 未分化は相対的な関係であり、相互に可逆的なものである。
- 分化への方向を逆転させて、再び個体発生へと細胞核を脱分化、つまり未分化への方向に誘導するのは卵の細胞質と言える。分化の結果、組織や器官を構成するようになった細胞が再びあらゆる可能性を取り戻すようになったことを、あえて初期化と呼ぶことにしよう。この卵の持つ若返りの性質によって、老化から死への道を歩んでいた古い細胞の年齢を新しく引き戻し、細胞の構造や機能を若返らせることができる。つまり、核は細胞質からのメッセージに反応している。DNA 自体は保存されているので、DNA の発現が変化する。初期化された細胞に保存されている
- 20 DNA などの核から発信するメッセージに、今度は細胞質が反応する。この反応に、核もまた細胞質からメッセージを受け取って相互に反応している。細胞質内を縦横に走る繊維性の細胞骨格は細胞膜や核膜ともつながる一連のパイプとなっていて、細胞膜から核までが連動して新たな分裂を開始する。
- 25 細胞が古びるということは、細胞小器官の物質の回転つまり



代謝の効率が悪くなり、老廃物がたまっていくことである。液胞のない動物の細胞でも、老廃物などが付着したりして修復のプロセスが働きにくくなる。物理的にも地球上で細胞が形や大きさを維持できなくなる。

- 5 太古からの物理的あるいは化学的な刺激の連続と放散によって生命が存続し、変化してきた。細胞膜を通じて外部からの刺激は直接に、または細胞内部で新たな物理的あるいは化学的な刺激に変換され、遺伝子の構造や機能に、定量的に影響を与える。

地球上の生物が生存できる温度、空気、水などの環境はそれほど  
10 広くないのと同様、地球上の生物が発生できる環境も一定の幅に限られていて、様々に変化する遺伝子のうち細胞の恒常性を保てる遺伝子が保存される。

保存されているのはDNAだけではない。有性生殖によってDNAは個体から個体へ移動し、個体内では無性生殖によって  
15 保存される。しかし、ミトコンドリアなどを含めて細胞質の構造や機能も独自に卵で保存されている。核や細胞質に散在する細胞小器官は個体内では無性生殖によって保存される。さらに、細胞質の構造や機能は、個体内の無性生殖に加え、有性生殖では卵によって保存されている。物質レベルにおいて、細胞小器官  
20 それぞれは独立に存在できる。それらが、細胞という建造物を構築する際、各々ふさわしい配置に着く。その場すなわち卵が形成されたところで、受精などの物理的あるいは化学的な刺激によって、それぞれの場を得た細胞小器官における反応が、時間の経過に伴う連鎖的な流れとなって複数のベクトルを持ちながら  
25 進められる。こうして分化の流れにのって増えていく細胞は、

それ自体多数化して集合し、場への移動と接着によって組織、器官、個体を形成していく。

老化していく細胞の各々は、卵の細胞質の若返りの性質によっていつでも未分化の状態へ立ち戻ることができる。また、個体や  
5 クローン体の交配や単為生殖などによって、新しい未分化の細胞をもつ新生クローン体の集団を作り出すことができる。それらの細胞には個体の持つ自己という意識はない。このようなレベルの異なる複数のクローン体集団を活用して生み出した新生細胞を用いて、組織、器官、個体を細胞年齢の若く新しい状態で再生  
10 できる。この発明は分化と時間を分離したと言える。

性染色体の型は、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、メダカなどではXY型であるが、ショウリョウバッタ、トンボ、エンマコオロギ、キリギリスなどではYのないXO型、逆に、ニワトリ、ヤマカガシ、カイコガなどでは雌ヘテロのZW型、  
15 ハト、トカゲ、アオウミガメ、ミノガなどではWのないZO型として応用できる。

#### 産業上の利用可能性

以上のように、本発明は、生物の個体やクローン体、器官、  
20 組織、細胞などの年齢を新生させる。生物の個体やクローン体の生殖細胞を用いて、細胞年齢の新しいクローン体、器官、組織、細胞などを再生させるので、若く健康な個体を永久に維持することができる。また、卵の若返りの性質を利用して古い細胞を新しくすることもできる。交配して繁殖可能な近縁種を  
25 新生クローン集団に参加させ、保存されたDNAやRNA、

生殖細胞などを使って、昔の生物を復活させることもできる。  
同じ遺伝子タイプを持つ初期化された新しい健康な細胞、組織、  
器官などの再生臓器を、古い細胞、組織、器官などの臓器と置き  
換えて、細胞、組織、器官などを初期化すると、個体の初期化が  
5 可能となり、永遠に生まれ変わり続けることができる。つまり、  
生きていながら生涯をリセットし続けることができる。この反復  
プロセスに、人工素材などの併用や新しいエネルギーの利用シス  
テムなどを組み入れると、細胞、組織、器官などの臓器性能がま  
すます向上し、自ら変貌を遂げながら多様に進化する生命を創造  
10 してゆくことができる。

## 請 求 の 範 囲

生物の個体やクローン体、器官、組織、細胞などの年齢を新生させる。生物の老化を防止し、個体、器官、組織、細胞などの

5 長期間にわたる良好な機能を保持する。生物の個体やクローン体の生殖細胞を用いて、細胞年齢の新しいクローン体や器官、組織、細胞などを再生させる。体細胞利用、二倍体利用、細胞融合などで自由に未分化の細胞を作り出すとともに、生じた

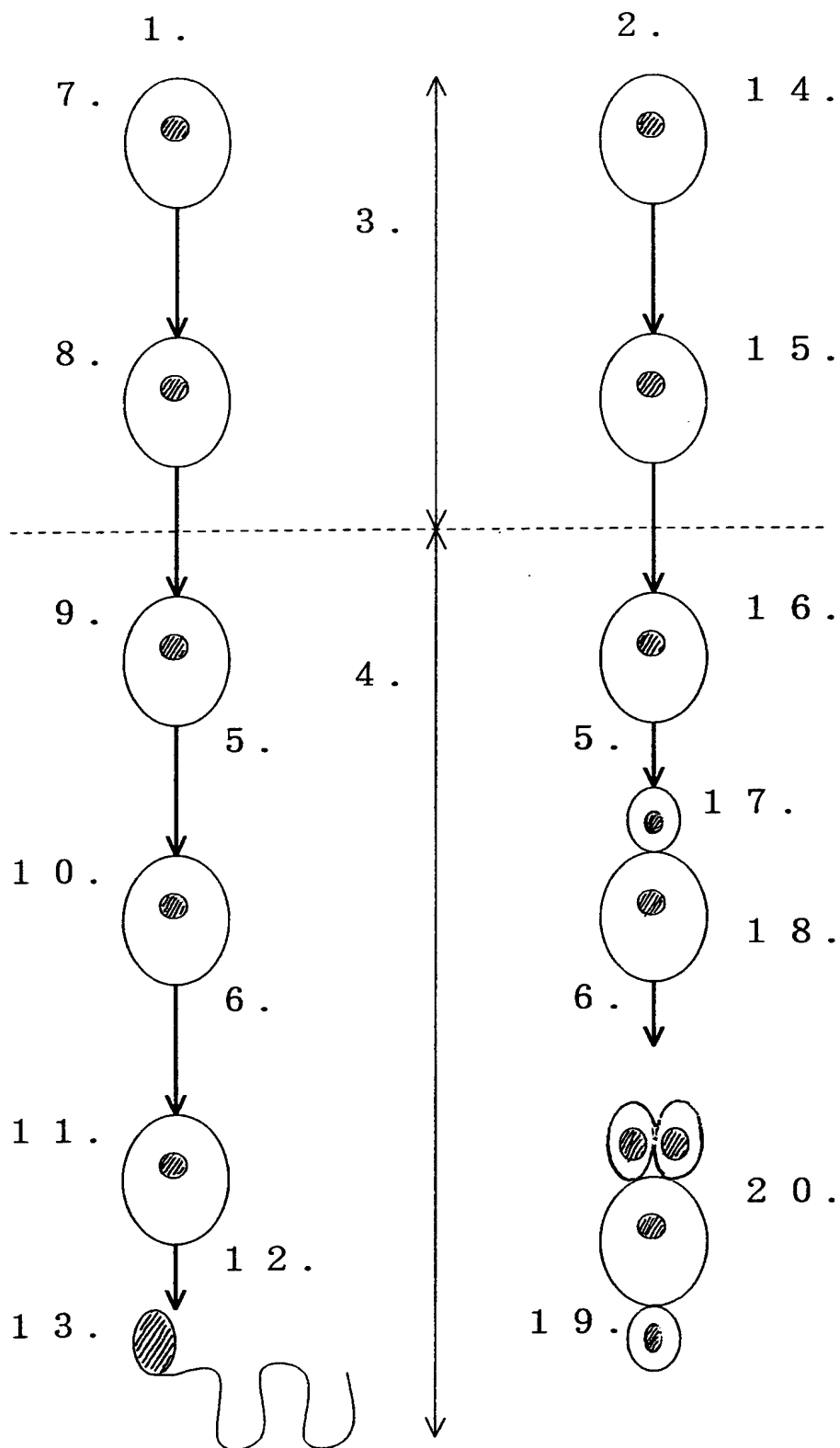
生物の個体やクローン体において受精や単為生殖などを組み合わせて行うことによってテロメアの完全に回復した新生クローン体の

10 集団を作成することができる。交配して繁殖可能な近縁の生物を新生クローン集団の一方に参加させ、保存されていたDNAやRNA、生殖細胞などと交配して生じた雌の生殖細胞などに、保存されていたDNAやRNA、生殖細胞などを交配するプロセスを繰り返していくと、昔の生物を現代によみがえらせることができる。昔の生物の中でも単為発生が可能なものであれば、人為的に物理的あるいは化学的な処置などを施すことによって単為生殖で復活させることもできる。新生クローン体集団を含めた様々なレベルの複数のクローン体集団を活用して生み出した新生細胞

15 は、若く健康な個体を永久に維持する基礎となる。卵の持つ若返りの性質によって、老化から死への道を歩んでいた古い細胞の年齢を新しく引き戻し、細胞の構造や機能を若返らせるのである。こうして同じ遺伝子タイプを持つ新生細胞、新生組織、新生器官などの新生臓器を、古い細胞、組織、器官などの臓器と置き換え

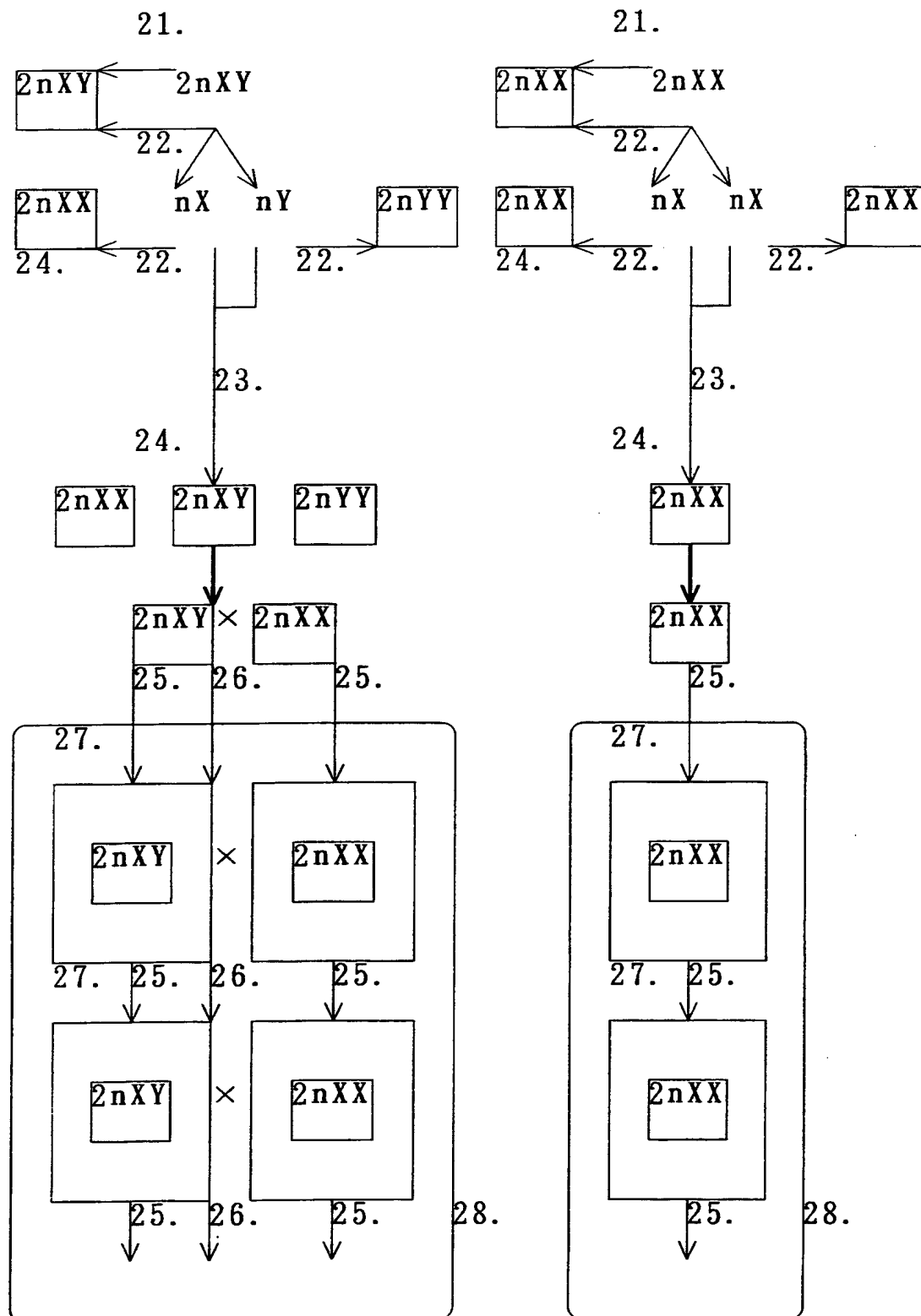
25 ることで、永遠の生命を創造する。

第 1 図



**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## 第 2 図



**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☒ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**